

⑧ 36-39

第28卷 第3期
2000年6月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol. 28 No. 3
Jun. 2000

[文章编号]1000-2782(2000)03-0036-04

香菇原生质体诱变育种初报

S646.120.3

王澄澈¹, 梁枝荣², 苗艳芳¹

(1 洛阳农业高等专科学校 园艺系, 河南 洛阳 471003;

2 中国科学院北京农村经济技术开发部, 北京 100080)

[摘要] 香菇栽培菌株原生质体经紫外线诱变后得到105株再生菌株, 与亲本菌株的菌丝长速、产量和出菇期进行比较, 部分再生菌株获得了早熟、高产的优良特性。经继代培养证明, 这些再生菌株获得的优良特性稳定。

[关键词] 香菇; 育种; 原生质体; UV 诱变 诱变育种 紫外线

[中图分类号] S646.1 **[文献标识码]** A

香菇双核菌丝体多细胞、壁厚等特点给诱变育种带来一定的困难, 而脱壁后的原生质体呈单细胞分散状态, 对诱变因子的敏感性增强, 可显著提高诱变率, 增加变异和选育的机会。近年来, 笔者在有关报道的基础上^[1-4], 进行了香菇原生质体紫外线(UV)诱变育种的研究, 现将结果报道如下。

1 材料与方方法

1.1 供试菌株

供试菌株 L38, 为生产用香菇原养型菌株。

1.2 培养基及试剂

本试验所用培养基及试剂^[5]见表1。

表1 培养基及试剂

名称	组成成分
完全培养液(CM)	硫酸镁 0.5 g/L, 磷酸二氢钾 0.46 g/L, 磷酸氢二钾 1.0 g/L, 蛋白胨 2.0 g/L, 酵母浸汁 2.0 g/L, 葡萄糖 20.0 g/L, 盐酸 5 μL/L
基本培养液(MM)	硫酸镁 0.5 g/L, 磷酸二氢钾 0.46 g/L, 磷酸氢二钾 1.0 g/L, 天冬酰胺 2.0 g/L, 葡萄糖 20.0 g/L, 盐酸 0.12 ml/L
完全固体培养基(CMA)	CM 内加琼脂 20.0 g/L
高渗稳定完全培养液(OCM)	CM 内加硫酸镁 72.2 g/L
高渗稳定完全固体培养基(OCMA)	OCM 内加琼脂 20 g/L
高渗稳定液(OSS)	硫酸镁 72.2 g/L, 马来酸 5.8 g/L, 酸碱度 5.8
裂解酶液(ES)	OSS 内加入裂解酶 15 g/L

1.3 原生质体分离

完全培养液(CM)内 25℃ 摇床培养 7 d 的香菇双核菌丝体, 用高渗稳定液(OSS)多

[收稿日期] 2000-02-28

[基金项目] 河南省科技攻关项目(981050019)

[作者简介] 王澄澈(1954-), 男, 副教授。

次冲洗后加入裂解酶液(ES),25℃下酶解5h,过滤后离心,收集原生质体,用OSS冲洗2次后稀释到适当浓度。

1.4 原生质体诱变和双核再生体的检出

原生质体稀释液在黑暗中用紫外线灯以 7.5×10^{-7} J的剂量处理15s。将处理后的原生质体溶液均匀地涂抹于高渗稳定完全固体培养基(OCMA)上,黑暗中25℃培养再生10~15d,将单个再生菌落转接到完全固体培养基(CMA)平板上,25℃培养5d后,通过显微镜观察检出双核再生体。

1.5 栽培料配方

每100kg栽培料按栎木屑78kg,麸皮20kg,石膏粉2kg的比例配制,含水量适宜。拌匀后装入15cm×30cm的聚丙烯塑料袋内,每袋装湿料550g,121℃高压灭菌2h。

1.6 观察记载项目

从亲本菌株和再生菌株菌落上切取直径0.3cm的圆片分别转接入CMA平板中心,每菌株重复5次,24℃暗光培养,定期观察,各取3个平板于第21天测量菌落直径。

将亲本菌株和再生菌株分别接入栽培袋内,每菌株重复5次,暗光下24℃培养,定期观察,于第40天测量菌丝从袋口接种处到菌丝生长前沿长度。菌丝满袋后,脱袋喷水,20℃左右转色,催蕾后进行出菇管理,各取3袋适时采菇称质量,记载三潮菇的产量。

2 结果与分析

2.1 原生质体分离和再生

采用本试验所用的原生质体分离和再生方法,一般可得到 5×10^6 mL⁻¹以上的原生质体,再生率为0.3%~0.8%,原生质体量和再生率均可满足试验所需。

2.2 双核菌丝的检出

再生菌落经显微镜观察,有10%左右是单核菌丝,从单个再生菌落中挑选双核菌丝体转接入CMA平板,培养后作进一步的研究。

2.3 CMA培养基上菌丝的生长情况

再生菌株在CMA平板培养基上25℃培养21d的菌落直径为2.9~4.8cm(表2),大部分分布在3.6~4.5cm,占再生菌株总数的88.5%。有3个再生菌株的菌落直径为4.6~4.8cm,L38-2生长最快,菌落直径达4.8cm。生长最慢的是L38-34和L38-55,菌落直径分别为3.0和2.9cm。亲本菌株的菌落直径平均为3.8cm,处于再生菌株的中间范围,表明通过原生质体诱变得到的再生菌株的菌丝生长特性有了明显的分化变异,有62.9%的再生菌株表现出生长速度加快的趋势。

表2 CMA平板培养基上菌丝的生长情况

菌株	菌落直径组别/cm	直径平均值/cm	数量/株	比率/%
再生菌株	2.6~3.0	3.0	6	5.7
	3.1~3.5	3.3	3	2.9
	3.6~4.0	3.8	30	28.5
	4.1~4.5	4.3	63	60.0
	4.6~5.0	4.7	3	2.9
亲本菌株	3.6~4.0	3.8	1	100.0

2.4 出菇早晚与产量表现

亲本菌株的出菇期在播后 44~50 d, 而再生菌株的出菇期变化幅度较大, 其中 6 株出菇期最短, 为 30~36 d, 有 3 株出菇期最长, 为 57~63 d, 表明通过原生质体分离诱变得到的再生菌株之间的出菇期也出现了较大的分化变异(表 3), 其中有 39.3% 的再生菌株出菇期有提早的趋势。

此外, 亲本菌株的产量为 56~101 g, 而再生菌株的产量变异幅度较大, 有 6 株没有出菇, 而有 6 株的产量超过亲本菌株 1 倍以上, 亲本菌株的产量处于再生菌株产量平均值略微偏低一点的水平, 表明通过原生质体分离诱变可从中筛选得到产量大幅度提高的变异菌株。

表 3 出菇早晚与产量表现

菌株	出 菇 期				菌株	鲜 菇 产 量			
	组别/d	平均/d	数量/株	比率/%		组别/g	平均/g	数量/株	比率/%
再生菌株	30~36	33	6	6.0	再生菌株	0	0	6	5.7
	37~43	40	33	33.3		10~55	32.5	21	20.0
	44~50	47	42	42.5		56~101	78.5	18	17.1
	51~56	54	15	15.2		102~147	124.5	21	20.0
	57~63	60	3	3.0		148~193	168.5	21	20.0
亲本菌株	44~50	45	1	100.0		194~239	214.5	12	11.4
						240~285	262.5	6	5.7
					亲本菌株	56~101	98	1	100.0

2.5 再生菌株出菇期和产量的稳定性

从产量较高出菇较早的再生菌株中选出 2 株通过组织分离得到纯菌种, 又连续 2 代重复栽培试验, 表明其高产早熟的特性稳定(表 4)。

表 4 再生菌株后代的出菇期和产量变化

菌株	出菇期/d			产量/g		
	第 1 代	第 2 代	第 3 代	第 1 代	第 2 代	第 3 代
亲本菌株 L38	46	44	48	101	118	114
再生菌株 L38-2	31	35	32	222	267	249
再生菌株 L38-8	33	30	31	185	241	237

3 小 结

本试验的目的是以香菇双核菌丝体为材料, 探讨通过原生质体紫外线诱变进行菌种选育的可能性。香菇双核菌丝原生质体经紫外线诱变处理后, 有 62.9% 的再生菌株比亲本菌株的菌丝生长速度加快, 有 39.3% 的再生菌株的出菇期提早, 有 5.7% 的再生菌株的产量超过亲本菌株 1 倍以上, 即诱变后的某些再生菌株获得了高产早熟的优良特性, 经继代栽培, 所获得的优良特性表现稳定。结果表明, 香菇原生质体 UV 诱变是一种很有应用价值的菌种选育方法。

[参考文献]

- [1] 周伏忠,贾身茂. 金针菇原生质体的制备再生及其紫外线诱变的条件实验[J]. 食用菌,1992,(2):8-9.
- [2] 许襄中,夏道平,刘金元. 原生质体紫外线诱变选育无孢高产平菇研究[J]. 食用菌,1996,(2):9-10.
- [3] 周伏忠,贾身茂,李秀玉. 香菇担孢子及其原生质体的紫外线诱变效应[J]. 食用菌,1995,(3):6-7.
- [4] 刘国振,贾建航,李莉云,等. 原生质体诱变技术选育香菇菌株研究[J]. 食用菌学报,1997,(4):11-16.
- [5] 王澄澈,苗艳芳,梁枝荣. 香菇和风尾菇原生质体融合初探[J]. 西北农业大学学报,2000,28(2):68-71.

A study on the protoplast-induced breeding of *Lentinus edodes*

WANG Cheng-che¹, LIANG Zhi-rong², Miao Yan-fang¹

(1 Agricultural College of Luoyang, Luoyang, He'nan 471003, China;

2 Department of Rural Economy and Technology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

Abstract: The experiment was carried out to inquire about the possibility of strain selection and improvement in *Lentinus edodes* through protoplast formation and mutagenesis by UV. Mycelial growth rate, yield, and period of fructification of 105 selected regenerants from UV-treated protoplasts were measured and compared with their parents. Several selected regenerants achieved some better qualities such as higher yield and earlier fruiting. Several repeated cultivations of these regenerants reconfirmed their new capacities.

Key words: *Lentinus edodes*; breeding; protoplast; UV-inducing